



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **09127105 A**(43) Date of publication of application: **16.05.97**

(51) Int. Cl

G01N 33/50**A61B 10/00****A61K 7/06****G01N 33/58****G01N 33/68****G01N 33/92**(21) Application number: **07303475**(22) Date of filing: **26.10.95**(71) Applicant: **KANEBO LTD**(72) Inventor: **SASAKI ICHIRO
UCHIWA HIDEYO****(54) HAIR DAMAGE DIAGNOSIS METHOD****(57) Abstract:**

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a method for diagnosing the degree of a hair damage in a unique way as well as with high sensitivity.

SOLUTION: In diagnosing the degree of damages to human hair, the hair is made to react with a fluorescent material such as a material to measure cholesterol, a

fluorescent material made of a bio-membrane probe, a fluorescent material capable of modifying a carboxylic group, a fluorescent material capable of marking DNA, and a fluorescent material capable of modifying an amino group, and a light of suitable wavelength is projected to the fluorescent material uniquely adsorbed to the damaged hair, thereby enabling the damaged hair to be identified with a fluorescence microscope.

COPYRIGHT: (C)1997,JPO

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-127105

(43) 公開日 平成9年(1997)5月16日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 33/50			G 0 1 N 33/50	H
A 6 1 B 10/00			A 6 1 B 10/00	Q
A 6 1 K 7/06			A 6 1 K 7/06	
G 0 1 N 33/58			G 0 1 N 33/58	A
33/68			33/68	
審査請求 未請求 請求項の数 6 F D (全 6 頁) 最終頁に続く				

(21) 出願番号 特願平7-303475

(22) 出願日 平成7年(1995)10月26日

(71) 出願人 000000952

鐘紡株式会社

東京都墨田区墨田五丁目17番4号

(72) 発明者 佐々木 一郎

神奈川県小田原市寿町5丁目3番28号 鐘紡株式会社生化学研究所内

(72) 発明者 打和 秀世

神奈川県小田原市寿町5丁目3番28号 鐘紡株式会社生化学研究所内

(54) 【発明の名称】 毛髪損傷診断法

(57) 【要約】

【課題】 本発明の目的は、毛髪の損傷度を特異的かつ感度良く容易に診断する方法を提供することにある。

【解決手段】 人間の毛髪の損傷度合いを診断するに際し、コレステロール測定用蛍光物質、生体膜プローブからなる蛍光物質、カルボキシル基を修飾できる蛍光物質、DNAを標識できる蛍光物質、アミノ基を修飾できる蛍光物質等の蛍光物質と、毛髪を反応させ、損傷毛特異的に吸着した蛍光物質を適当な波長の光を照射する事により蛍光顕微鏡で損傷毛を判別する事を可能とする毛髪損傷診断法。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 蛍光物質を用いて毛髪の損傷を診断する方法において、蛍光物質として、コレステロール測定用蛍光物質、生体膜プローブからなる蛍光物質、カルボキシル基を修飾できる蛍光物質、DNAを標識できる蛍光物質、アミノ基を修飾できる蛍光物質、からなる群から選択される物質を使用することを特徴とする毛髪損傷診断法。

【請求項2】 コレステロール測定用の蛍光物質が、フィリピンであることを特徴とする請求項1記載の毛髪損傷診断法。

【請求項3】 生体膜プローブからなる蛍光物質が、2-(4,4-ジフルオロ-5-オクチル-4-ボラー3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-ペンタノイル)-1-ヘキサデカノイル-sn-グリセロ-3-フォスフォコリン、又は4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラー3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-デシルスルフェートであることを特徴とする請求項1記載の毛髪損傷診断法。

【請求項4】 カルボキシル基を修飾できる蛍光物質が、9-アンスリルジアゾメタンであることを特徴とする請求項1記載の毛髪損傷診断法。

【請求項5】 DNAを標識できる蛍光物質が、アクリジンオレンジであることを特徴とする請求項1記載の毛髪損傷診断法。

【請求項6】 アミノ基を修飾できる蛍光物質が、ダンシルクロライドであることを特徴とする請求項1記載の毛髪損傷診断法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、毛髪の損傷度を診断する際、損傷毛を特異的かつ感度良く容易に判別することが出来る毛髪損傷診断法に関する。

【0002】

【従来の技術】人間の毛髪は、日々のブラッシングやパーマ等の化学的施術により損傷を受け、その結果、毛先に枝毛や切れ毛等毛髪に対して好ましくない影響を与える。そして、一度損傷した毛髪は、修復能力がないため経時的に損傷の程度が広がっていく。そのため毛髪の損傷度合いを日々把握し、その度合いに応じたトリートメント剤により毛髪の保護を行う必要がある。しかし、毛髪の損傷度合いを簡便に調べる方法は、知られておらず、その開発が望まれていた。

【0003】従来、毛髪の損傷度を測定する方法として走査型電子顕微鏡を用いた毛髪の表面分析法(Swift J. A. and Brown A. C., Journal of the Society of Cosmetic Chemists, 23, 695 (1972))、毛髪の機械的強度を測る引張り試験(Donald E. D. and Martin M. R.,

Journal of the Society of Cosmetic Chemists, 19, 395 (1968))、毛髪の内部構造の変化を測定するThermomechanical Analysis(Humphres W. T. et al., Journal of the Society of Cosmetic Chemists, 23, 359 (1972))等があるが、操作が煩雑であるという欠点を有していた。

【0004】また、毛髪の損傷度を測定する方法として蛍光物質であるRhodamine Bを用いる方法が紹介されている(Tate M. L. et al., Journal of the Society of Cosmetic Chemists, 44, 347 (1993))。しかし、この方法では損傷毛よりむしろ健康毛が蛍光物質と反応するため損傷毛の判別が難しく、その上この蛍光物質の毛髪との結びつきが静電氣的であるため日々の髪の手入れによる損傷の判別は出来なかった。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】従って、本発明の目的とするところは、損傷毛を特異的かつ感度良く容易に判別できる毛髪損傷診断法を提供するにある。

【0006】

【課題を解決するための手段】上記の目的は、蛍光物質としてコレステロール測定用蛍光物質、生体膜プローブからなる蛍光物質、カルボキシル基を修飾できる蛍光物質、DNAを標識できる蛍光物質、アミノ基を修飾できる蛍光物質を使用することを特徴とする毛髪損傷診断法によって達成される。

【0007】

【発明の実施の形態】以下、本発明の構成について詳細に説明する。

【0008】本発明に用いられるコレステロール測定用の蛍光物質としては、例えばフィリピン/Filipin等が挙げられ、これは、ポリサイエンス社より入手可能であり安価でしかも高感度であるため好ましい。

【0009】本発明で使用する生体膜プローブとは蛍光団が結合した膜親和成分(脂肪酸、リン脂質、コレステロール等)を言う。

【0010】本発明に用いられる生体膜プローブである蛍光物質としては、例えば3,6-ビス(ジメチルアミノ)-10-ドデシルアクリジニウムブロマイド/3,6-Bis(dimethylamino)-10-dodecylacridinium bromide, 1-アニリノナフタレン-8-スルフォニックアシッド/1-Anilinonaphthalene-8-sulfonic acid, 4,4-ジフルオロ-5,2-(4,4-ジフルオロ-5-オクチル-4-ボラー3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-ペンタノイ

3

ル) -1-ヘキサデカノイル-sn-グリセロ-3-フォスフォコリン/2-(4, 4-Difluoro-5-octyl-4-bora-3a, 4a-diaza-s-indacene-3-pentanoyl)-1-hexadecanoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, 7-ジメチル-4-ボラ-3a, 4a-ジアザ-s-インダセン-3-デシルスルフェート/4, 4-Difluoro-5, 7-dimethyl-4-bora-3a, 4a-diaza-s-indacene-3-decylsulfate等が挙げられ、それらの内でも2-(4, 4-ジフルオロ-5-オクチル-4-ボラ-3a, 4a-ジアザ-s-インダセン-3-ペンタノイル)-1-ヘキサデカノイル-sn-グリセロ-3-フォスフォコリンと4, 4-ジフルオロ-5, 7-ジメチル-4-ボラ-3a, 4a-ジアザ-s-インダセン-3-デシルスルフェートが、モレキュラプローブ社より入手可能であり高感度であるため好ましい。

【0011】本発明に用いられるカルボキシル基を修飾する蛍光物質としては、例えば7-アセトキシ-4-(bromomethyl) coumarin, 1-ピレニルジアゾメタン/1-Pyrenyldiazomethane, 9-アンスリルジアゾメタン/9-Anthryldiazomethane等が挙げられ、それらの内でも9-アンスリルジアゾメタンが、フナコシ株式会社より入手可能であり安価でしかも高感度であるため好ましい。

【0012】本発明に用いられるDNAを標識する蛍光物質としては、例えばエチジウムブロマイド/Ethidium bromide, プロピディウムイオダイド/Propidium iodide, アクリジンオレンジ/Acridine orange等が挙げられ、それらの内でもアクリジンオレンジが、モレキュラプローブ社等より入手可能であり安価でしかも高感度であるため好ましい。

【0013】蛍光物質としてこれらのDNAを標識する蛍光物質を用いた場合、特別な機器を必要とせず、目視により簡便に毛髪の損傷度を判別できるため好ましい。

【0014】本発明に用いられるアミノ基を修飾する蛍光物質としては、例えばフルオレスカミン/Fluorescamine, フルオレセインイソチオシアネート/Fluorescein isothiocyanate, ダンシルクロライド/Dansyl chloride等が挙げられ、それらの内でもダンシルクロライドが、ピアスケミカル社より入手可能であり安価でしかも高感度であるため好ましい。

【0015】本発明で使用される蛍光物質を溶解する溶媒は、使用する蛍光物質の種類によって異なり一概に規定出来るものではないが、一般にメタノール、エタノール、

4

アセトン、ジメチルスルフォキシド等の有機溶媒や水が望ましく、具体的にはフィリピンの場合ではジメチルスルフォキシドを溶媒とするのが好ましく、2-(4, 4-ジフルオロ-5-オクチル-4-ボラ-3a, 4a-ジアザ-s-インダセン-3-ペンタノイル)-1-ヘキサデカノイル-sn-グリセロ-3-フォスフォコリンおよび4, 4-ジフルオロ-5, 7-ジメチル-4-ボラ-3a, 4a-ジアザ-s-インダセン-3-デシルスルフェートの場合ではイオン交換水を溶媒とするのが好ましく、9-アンスリルジアゾメタンの場合ではメタノールを溶媒とするのが好ましく、DNAを標識する蛍光物質の場合、水溶液が望ましく、具体的にはアクリジンオレンジの場合ではイオン交換水に溶解するのが好ましく、ダンシルクロライドの場合ではアセトンを溶媒とするのが好ましい。

【0016】本発明で使用される蛍光物質の溶液濃度は、使用する蛍光物質の種類により異なり一概に規定出来るものではないが、コレステロール測定用の蛍光物質、生体膜プローブからなる蛍光物質、カルボキシル基を修飾する蛍光物質、DNAを標識する蛍光物質の場合は一般に0.001~10%(W/V)が望ましく、具体的にはフィリピン、2-(4, 4-ジフルオロ-5-オクチル-4-ボラ-3a, 4a-ジアザ-s-インダセン-3-ペンタノイル)-1-ヘキサデカノイル-sn-グリセロ-3-フォスフォコリンおよび4, 4-ジフルオロ-5, 7-ジメチル-4-ボラ-3a, 4a-ジアザ-s-インダセン-3-デシルスルフェート, 9-アンスリルジアゾメタン, アクリジンオレンジの場合、0.01~1%が、好ましい。アミノ基を修飾する蛍光物質の場合は、一般的に0.1~10%(W/V)が望ましく、具体的にはダンシルクロライドの場合、0.5~5%が好ましい。

【0017】本発明で使用される蛍光物質と損傷毛の反応は、蛍光物質の種類により異なり一概に規定出来るものではないが、コレステロール測定用の蛍光物質、DNAを標識する蛍光物質、の場合は一般にリン酸ナトリウム緩衝液等の緩衝液中で、生体膜プローブからなる蛍光物質の場合は一般に水溶液中で、カルボキシル基を修飾する蛍光物質の場合は一般に蛍光物質が溶解する溶液中で、アミノ基を修飾する蛍光物質の場合は一般に適当な塩溶液で行うのが望ましく、具体的にはフィリピンの場合では、生理リン酸緩衝液が、2-(4, 4-ジフルオロ-5-オクチル-4-ボラ-3a, 4a-ジアザ-s-インダセン-3-ペンタノイル)-1-ヘキサデカノイル-sn-グリセロ-3-フォスフォコリンおよび4, 4-ジフルオロ-5, 7-ジメチル-4-ボラ-3a, 4a-ジアザ-s-インダセン-3-デシルスルフェートの場合ではイオン交換水が、9-アンスリルジアゾメタンの場合では、溶解させたメタノールが特に好ましく、9-アンスリルジアゾメタンの場合では、溶解

させたメタノールが特に好ましく、アクリジンオレンジの場合では、1 mM-エチレンジアミン四酢酸を含む10 mM-リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.0) 等の pH 6~8 までの緩衝液が好ましく、ダンシルクロライドの場合では、0.1 M-炭酸水素ナトリウム水溶液が特に好ましい。

【0018】また、本発明に使用される蛍光物質と損傷毛の反応温度としては、コレステロール測定用の蛍光物質、生体膜プローブからなる蛍光物質、DNAを標識する蛍光物質、アミノ基を修飾する蛍光物質の場合は0~80℃が選択出来、カルボキシル基を修飾できる蛍光物質の場合は0~60℃が選択出来、コレステロール測定用の蛍光物質、生体膜プローブからなる蛍光物質、カルボキシル基を修飾できる蛍光物質、DNAを標識する蛍光物質の場合は15~30℃が、アミノ基を修飾する蛍光物質の場合は30~40℃が特に好ましい。

【0019】更に、本発明に使用される蛍光物質と損傷毛の反応時間としては、コレステロール測定用の蛍光物質、生体膜プローブからなる蛍光物質、カルボキシル基を修飾できる蛍光物質の場合は1分~5時間でよく、診断の確実性を上げるためには、コレステロール測定用の蛍光物質の場合は10分~1時間が、生体膜プローブからなる蛍光物質の場合は45分~1時間30分が、カルボキシル基を修飾できる蛍光物質の場合は2~4時間が特に好ましい。また、DNAを標識する蛍光物質の場合、反応時間は1分~1時間でよく、診断の確実性を上げるためには3分~10分が特に好ましい。更に、アミノ基を修飾する蛍光物質の場合は30秒~5時間でよく、診断の確実性を上げ、時間の節約を行うためには1分~5分が特に好ましい。

【0020】毛髪と反応した蛍光物質の検出は、適当な波長の光を照射する事により達成される。具体的にはフィリピン、9-アンスリルジアゾメタン、アクリジンオレンジ、N-(9-アクリジニル)マレイミドの場合340 nm~400 nmまで任意の波長の光を選択する事が出来るが、蛍光強度の強さや光源の入手し易さ等により360 nm~370 nmの波長の光を照射するのが好ましい。また、2-(4,4-ジフルオロ-5-オクチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-インダセン-3-ペンタノイル)-1-ヘキサデカノイル-s n-グリセロール-3-フォスホコリンおよび4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-インダセン-3-デシルスルフェートの場合40*

*0 nm~600 nmまで任意の波長の光を選択する事が出来るが、蛍光強度の強さや光源の入手し易さ等により450 nm~500 nmの波長の光を照射するのが好ましい。

【0021】損傷度合いの判断は、目視または蛍光顕微鏡で行う事が出来るが、診断の精確さを求めるために蛍光顕微鏡で行うのが好ましい。但し、DNAを標識する蛍光物質、アミノ基を修飾する蛍光物質の場合、目視によっても、十分判別が可能であるため、操作の簡便性の点では、目視によるのが好ましい。

【0022】尚、分析毛髪としては、日本人、中国人等入種を問わず使用出来るが、分析に先立ってメタノール等により毛髪の油分を更にラウリル硫酸ナトリウム等の界面活性剤により毛髪の汚れを落としておくのが望ましい。

【0023】また、反応に用いる毛髪の長さは、5 mm~ロングヘアーの毛先から根元までの長さを任意に選ぶ事が出来るが、操作上1~5 cmの長さが好ましい。

【0024】更に、反応に用いる毛髪の本数は、1本から行えるが、診断の精確さを求めなおかつ簡便であるためには1~20本が望ましい。

【0025】

【実施例】以下実施例により本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例により限定されるものではない。

【0026】実施例1

クロロホルムを含むメタノール (組成比1:1) で油分を、その後1%ラウリル硫酸ナトリウム水溶液により汚れを落とした中国人毛髪を未処理毛髪とし、この毛髪を水に膨潤させ市販の豚毛ブラシにより100回ブラッシングし、このブラッシング毛髪を更に既知の方法によりパーマ処理した毛髪をパーマ+ブラッシング毛髪とした。

【0027】各種毛髪10本ずつを試験管に入れ、それにジメチルスルフォキシド/生理リン酸緩衝液 (1:50) に溶解した0.02%濃度のフィリピン溶液3 mlを加え、20℃の室温下30分間放置した。

【0028】その後、上記フィリピンを溶解した緩衝液3 mlで3回毛髪を洗浄し、乾燥後各種毛髪に暗箱中で365 nmの波長を持つ光を照射し、蛍光顕微鏡により蛍光強度を判断した。

【0029】

【表1】

毛髪の種類	試験本数 (本)	蛍光を発する強度
未処理毛髪	10	蛍光なし
パーマ+ブラッシング毛髪	10	強い蛍光

【0030】上記試験の結果を表1に示す。その結果、未処理毛髪ではほとんど蛍光を発せず、ほとんど損傷し

ていない毛髪と判断出来、パーマ+ブラッシング毛髪では強い蛍光を発し、完全に損傷した毛髪と判断出来た。

【0031】実施例2～3

実施例1と同様に準備した各種毛髪10本ずつを試験管に入れたものを、各々2組用意し、0.1%濃度の2-(4,4-ジフルオロ-5-オクチル-4-ボラー3a,4a-ジアザ-3-インダセン-3-ペンタノイル)-1-ヘキサデカノイル-スナ-グリセロ-3-フオスフォコリン水溶液(実施例2)、又は4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラー3a,4a-ジ*10

*アザ-3-インダセン-3-デシルスルフェート水溶液(実施例3)0.1mlを加え、20℃の室温下で1時間放置した。

【0032】その後、イオン交換水3mlで3回毛髪を洗浄し、乾燥後各種毛髪に450nmから500nmの波長を持つ光を照射し、蛍光顕微鏡により蛍光強度を判断した。

【0033】

【表2】

	実施例2		実施例3	
毛髪の種類	試験本数	蛍光強度	試験本数	蛍光強度
未処理毛髪	10本	弱い蛍光	10本	弱い蛍光
パーマ+ブラッシング毛髪	10本	強い蛍光	10本	強い蛍光

【0034】上記試験の結果を表2に示す。その結果、未処理毛髪ではほとんど弱い蛍光しか発せず、ほとんど損傷していない毛髪と判断出来、パーマ+ブラッシング毛髪では強い蛍光を発し、完全に損傷した毛髪と判断出来た。

【0035】実施例4

実施例1と同様に準備した各種毛髪10本ずつを試験管に入れ、それにメタノールに溶解した0.1%濃度の9※

※-アンスリルジアゾメタン溶液3mlを加え、20℃の室温で3時間加熱した。

【0036】その後、メタノール3mlで3回毛髪を洗浄し、乾燥後各種毛髪に365nmの波長を持つ光を照射し、蛍光顕微鏡により蛍光強度を判断した。

【0037】

【表3】

毛髪の種類	試験本数(本)	蛍光を発する強度
未処理毛髪	10	弱い蛍光
パーマ+ブラッシング毛髪	10	強い蛍光

【0038】上記試験の結果を表3に示す。その結果、未処理毛髪ではほとんど弱い蛍光しか発せず、ほとんど損傷していない毛髪と判断出来、パーマ+ブラッシング毛髪では強い蛍光を発し、完全に損傷した毛髪と判断出来た。

【0039】実施例5

実施例1と同様に準備した未処理毛髪、ブラッシング毛髪、パーマ+ブラッシング毛髪の各種毛髪10本ずつを試験管に入れ、1mM-エチレンジアミン四酢酸を含む★

★10mM-リン酸ナトリウム緩衝液(pH7.0)3mlを加え毛髪を膨潤した。それにイオン交換水に溶解した0.05%濃度のアクリジンオレンジ溶液0.1mlを加え、20℃の室温下で5時間放置した。

【0040】その後、イオン交換水10mlで3回毛髪を洗浄し、乾燥後各種毛髪に暗箱中で365nmの波長を持つ光を照射し目視により蛍光強度を判断した。

【0041】

【表4】

毛髪の種類	試験本数(本)	蛍光を発する強度
未処理毛髪	10	蛍光なし
ブラッシング毛髪	10	弱い蛍光
パーマ+ブラッシング毛髪	10	強い蛍光

【0042】上記試験の結果を表4に示す。その結果、未処理毛髪ではほとんど蛍光を発せず、目視によりほと

んど損傷していない毛髪と判断出来、ブラッシング毛髪では弱い蛍光を発し、目視により一部損傷している毛髪

と判断出来、パーマ+ブラッシング毛髪では強い蛍光を発し、目視により完全に損傷した毛髪と判断出来た。

【0043】実施例 6

実施例 1 と同様に準備した未処理毛髪、ブラッシング毛髪、パーマ+ブラッシング毛髪の各種毛髪 10 本ずつを試験管に入れ、0.1M-炭酸水素ナトリウム 3 ml を加え毛髪を膨潤した。それにアセトンに溶解した 2 % 濃度のダンシルクロライドアセトン溶液 1 ml を加え、3 *

* 7℃の湯浴中で 2 分間加温した。

【0044】その後、イオン交換水 10 ml で 3 回、更にアセトン 5 ml で毛髪を洗浄し、乾燥後各種毛髪に暗箱中で 365 nm の波長を持つ光を照射し、目視により蛍光強度を判断した。

【0045】

【表 5】

毛髪の種類	試験本数 (本)	蛍光を発する強度
未処理毛髪	10	蛍光なし
ブラッシング毛髪	10	弱い蛍光
パーマ+ブラッシング毛髪	10	強い蛍光

【0046】上記試験の結果を表 5 に示す。その結果、未処理毛髪ではほとんど蛍光を発せず、目視によりほとんど損傷していない毛髪と判断出来、ブラッシング毛髪では弱い蛍光を発し、目視により一部損傷している毛髪と判断出来、パーマ+ブラッシング毛髪では強い蛍光を発し、目視により完全に損傷した毛髪と判断出来た。

【0047】以上の様に、本発明の、蛍光物質により人

間の毛髪の損傷度を測定する方法は、各種損傷度を有する毛髪の損傷度を的確に診断する事が出来るという利点を有する。

【0048】

20 【発明の効果】 以上のように、本発明により、毛髪の損傷度を診断する際、損傷毛を簡便に特異的かつ感度良く判別する診断方法が提供出来る。

フロントページの続き

(51) Int. Cl.⁶

G 0 1 N 33/92

識別記号

庁内整理番号

F I

G 0 1 N 33/92

技術表示箇所

A